

This Page Is Inserted by IFW Operations  
and is not a part of the Official Record

## **BEST AVAILABLE IMAGES**

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images may include (but are not limited to):

- BLACK BORDERS
- TEXT CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- FADED TEXT
- ILLEGIBLE TEXT
- SKEWED/SLANTED IMAGES
- COLORED PHOTOS
- BLACK OR VERY BLACK AND WHITE DARK PHOTOS
- GRAY SCALE DOCUMENTS

**IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.**

**As rescanning documents *will not* correct images,  
please do not report the images to the  
Image Problem Mailbox.**

JP1998291999A

1998-11-4

## Bibliographic Fields

## Document Identity

(19)【発行国】

日本国特許庁(JP)

(12)【公報種別】

公開特許公報(A)

(11)【公開番号】

特開平10-291999

(43)【公開日】

平成10年(1998)11月4日

## Public Availability

(43)【公開日】

平成10年(1998)11月4日

## Technical

(54)【発明の名称】

高等動物体毛由来の還元タンパク質またはその水性媒体分散液およびその製造方法

(51)【国際特許分類第6版】

C07K 14/46

1/107

1/14

C08L 89/04

【FI】

C07K 14/46

1/107

1/14

C08L 89/04

【請求項の数】

2

【出願形態】

FD

【全頁数】

8

## Filing

【審査請求】

(19) [Publication Office]

Japan Patent Office (JP)

(12) [Kind of Document]

Unexamined Patent Publication (A)

(11) [Publication Number of Unexamined Application]

Japan Unexamined Patent Publication Hei 10 - 291999

(43) [Publication Date of Unexamined Application]

1998 (1998) November 4 days

(43) [Publication Date of Unexamined Application]

1998 (1998) November 4 days

(54) [Title of Invention]

REDUCTION PROTEIN OR AQUEOUS MEDIUM  
DISPERSION AND ITS MANUFACTURING METHOD  
OF HIGHER ANIMAL BODY HAIR DERIVATION

(51) [International Patent Classification, 6th Edition]

C07K 14/46

1/107

1/14

C08L 89/04

【FI】

C07K 14/46

1/107

1/14

C08L 89/04

【Number of Claims】

2

【Form of Application】

FD

【Number of Pages in Document】

8

【Request for Examination】

JP1998291999A

1998-11-4

未請求

Unrequested

(21)【出願番号】

(21) [Application Number]

特願平9-116374

Japan Patent Application Hei 9 - 116374

(22)【出願日】

(22) [Application Date]

平成9年(1997)4月18日

1997 (1997) April 18 days

**Parties**

**Applicants**

(71)【出願人】

(71) [Applicant]

【識別番号】

[Identification Number]

592005788

592005788

【氏名又は名称】

[Name]

山内 清

YAMAUCHI IT IS CLEAR

【住所又は居所】

[Address]

大阪府河内長野市北青葉台27-19

Osaka Prefecture Kawachinagano City north Aobadai 27 - 19

(71)【出願人】

(71) [Applicant]

【識別番号】

[Identification Number]

000147213

000147213

【氏名又は名称】

[Name]

株式会社成和化成

SEIWA KASEI, K.K. (DB 69-348-6227)

【住所又は居所】

[Address]

大阪府東大阪市布市町1丁目2番14号

Osaka Prefecture Higashi Osaka City Nunoichi-cho 1-2-14

**Inventors**

(72)【発明者】

(72) [Inventor]

【氏名】

[Name]

山内 清

Yamauchi it is clear

【住所又は居所】

[Address]

大阪府河内長野市北青葉台27-19

Osaka Prefecture Kawachinagano City north Aobadai 27 - 19

**Agents**

(74)【代理人】

(74) [Attorney(s) Representing All Applicants]

【弁理士】

[Patent Attorney]

【氏名又は名称】

[Name]

三輪 鐵雄

Miwa Tetsuo

**Abstract**

(57)【要約】

(57) [Abstract]

【課題】

[Problems to be Solved by the Invention]

人毛、獣毛、羽毛などの高等動物体毛から、高分子量成分が多く、かつ架橋可能なチオール基を有してフィルム、シートなどの高分子成形品の作製が可能で、しかも生分解性を有する還元タンパクまたはその水性媒体分散液を製造する。

#### 【解決手段】

人毛、獣毛、羽毛などの高等動物体毛を、水性媒体中、タンパク質変成剤またはタンパク質変成剤と界面活性剤の存在下で、還元剤により還元し、還元剤の存在下で、細片化と加温熟成した後、分離精製することによって、高等動物体毛由来の還元タンパク質またはその水性媒体分散物を製造する。

#### Claims

##### 【特許請求の範囲】

##### 【請求項 1】

人毛、獣毛、羽毛などの高等動物体毛を、水性媒体中、タンパク質変成剤の存在下またはタンパク質変成剤と界面活性剤の存在下で、還元剤により還元し、還元剤の存在下で、細片化と加温熟成した後、分離精製して得られたことを特徴とする高等動物体毛由来の還元タンパク質またはその水性媒体分散物。

##### 【請求項 2】

人毛、獣毛、羽毛などの高等動物体毛を、水性媒体中、タンパク質変成剤またはタンパク質変成剤と界面活性剤の存在下で、還元剤により還元し、還元剤の存在下で、細片化と加温熟成した後、分離精製することを経る高等動物体毛由来の還元タンパク質またはその水性媒体分散物の製造方法。

#### Specification

##### 【発明の詳細な説明】

##### 【0001】

##### 【発明の属する技術分野】

本発明は、高等動物体毛由来の還元タンパク質またはその水性媒体分散物およびその製造方法に関し、さらに詳しくは、高分子量成分が多く、かつ架橋可能なチオール基を有し、しかも生分解性を有する高等動物体毛由来の還元タンパク質またはその水性媒体分散物およびその製造方法に関する。

From human hair, animal fur, feather or other higher animal body hair, high molecular weight component is many, at same time having possessed crosslinkable thiol group, production of film, sheet or other polymer molded article being possible, furthermore produces reduction protein or aqueous medium dispersion which possesses biodegradability.

#### [Means to Solve the Problems]

In aqueous medium, under existing of protein modifier or protein modifier and detergent, it reduces human hair, animal fur, feather or other higher animal body hair, with reductant, under existing of reductant, after flaking and heating maturing, separation and purification it does, reduction protein or aqueous medium dispersion of higher animal body hair derivation is produced with.

#### [Claim(s)]

##### [Claim 1]

In aqueous medium, under or protein modifier and detergent existing of protein modifier under existing, it reduced human hair, animal fur, feather or other higher animal body hair, with reductant, under existing of reductant, after flaking and heating maturing, separation and purification it did and acquired reduction protein or aqueous medium dispersion. of higher animal body hair derivation which is made feature

##### [Claim 2]

Reduction protein of higher animal body hair derivation where in aqueous medium, under existing of protein modifier or protein modifier and detergent, it reduces the human hair, animal fur, feather or other higher animal body hair, with reductant, under existing of reductant, after flaking and heating maturing, separation and purification it does and makes feature or manufacturing method. of aqueous medium dispersion

#### [Description of the Invention]

##### [0001]

##### [Technological Field of Invention]

this invention regards reduction protein or aqueous medium dispersion and its manufacturing method of higher animal body hair derivation, furthermore as for details, high molecular weight component is many, at same time possesses crosslinkable thiol group, furthermore regards reduction protein or aqueous medium dispersion and its manufacturing method of higher animal body hair derivation which possesses biodegradability.

本発明によって得られる還元タンパク質は、架橋可能なチオール基を有すること、高分子量成分が多いという特性を利用して、たとえば膜、フィルム、繊維、スポンジなどの高分子成形品の製造に好適に使用され、それらの高分子成形品は、生分解性を有して、投棄された場合、微生物によって分解するので、自然環境の保護に役立つという優れた特性を有している。

## [0002]

## [従来の技術]

人毛、獣毛、羽毛などの高等動物体毛は外層と内層に分けられる。

外層はスケールと呼ばれる薄い板状のクチクル細胞であり、内層はケラチンタンパク(蛋白)質を主成分とするコルテックス細胞から成っている。

上記のような高等動物体毛を還元抽出して得られるケラチンペプチドやその誘導体は、既に毛髪化粧料、繊維染色剤、織物改質剤などの配合剤として利用されている。

## [0003]

また、毛髪、羊毛などの組織中に構造タンパクとして存在するケラチンは、従来から、フィルム、繊維などの産業素材原料として注目されてきた。

しかしながら、ケラチンは、通常の溶媒に対して不溶ないしは難溶であるため、溶液状態を経て二次加工に利用するには、加水分解により大幅に短分子量化するか、あるいはケラチンのジスルフィド結合の還元処理をするか、あるいは生成したチオール基の化学処理(アルキル化反応など)による不可逆的修飾を施さなければ利用することができなかった。

## [0004]

すなわち、これまで、ケラチンを溶液状態を経て二次加工に利用するには、羊毛などのケラチン含有物質を酸、アルカリまたは酵素により加水分解して短分子量化したケラチン加水分解物の水溶液として利用するか、あるいは還元剤と尿素などのタンパク質変成剤との共用によりケラチンのジスルフィド結合をチオール基に還元して生成した還元ケラチンの水溶液として利用するか、あるいは上記の還元ケラチンのチオール基の再結合防止のためにモノヨード酢酸によりアルキル化誘導体にするか、あるいは亜硫酸ナトリウム/テトラチオン酸ナトリウムにより  $S-SO_3^-Na^+$  化することによって不可逆的に化学修飾し

Reduction protein which is acquired with this invention making use of the characteristic that, is many a thing and a high molecular weight component which possess crosslinkable thiol group to be used by ideal for production of for example film, film, fiber, sponge or other polymer molded article, because having possessed biodegradability, when it is abandoned, it disassembles those polymer molded article, with the microorganism, it has possessed characteristic which is useful to protection of natural environment and is superior.

## [0002]

## [Prior Art]

human hair, animal fur, feather or other higher animal body hair is divided into outer layer and inner layer.

With cuticle cell of thin platelet where outer layer is called scale, inner layer has consisted of cortex cell which designates keratin protein (protein) quality as main component.

As description above reducing extracting higher animal body hair, keratin peptide and the its derivative which are acquired are utilized already as hair make-up, fiber dye, woven article modifier or other additive.

## [0003]

In addition, keratin which exists as structure protein was observed in the hair, wool or other organization from until recently, as film, fiber or other industry material starting material.

But, insoluble it does keratin, to be vis-a-vis conventional solvent and because it is a poorly soluble, passing by solution state, in secondary processing it utilizes, to greatly short molecular weight it converts with hydrolysis, or does reduction process of disulfide bond of keratin?, Or if irreversible decoration was not administered with chemical treatment (alkylation reaction etc) of the thiol group which is formed it utilizes it was not possible.

## [0004]

namely, so far, passing by solution state, it utilizes keratin in the secondary processing, hydrolysis doing wool or other keratin containing substance with acid, alkali or enzyme, it utilizes to short molecular weight as aqueous solution of keratin hydrolysate which it converts?, Or reducing disulfide bond of keratin in thiol group with common use with reductant and urea or other protein modifier, it utilizes for recombination prevention of the thiol group of above-mentioned reduction keratin as aqueous solution of the reduction keratin which it forms, or it makes alkylation derivative with mono iodo acetic acid?, Or with sodium sulfite/tetra thionic acid sodium to  $S-SO_3^-Na^+$  it converts with it was utilized as aqueous solution of keratin derivative which

たケラチン誘導体の水溶液として利用されてきた。

【0005】

一方、高等動物体毛の 10~20 重量%を占めるスケールはエキソクチクルとエンドクチクルを主成分とするが、これらのクチクル細胞由来のタンパク質はタンパク質分子間のイソペプチド結合やホスホアミド結合によって架橋されている上に、アミノ酸としてハーフシステインを多量に含んでいて(エキソクチクルでは全アミノ酸の 20~30 モル%を占める)、タンパク質分子間をジスルフィド結合(S-S)によって架橋しているため、化学薬品に対して高い抵抗性を示し、かつ、いかなる溶媒に対しても不溶であり、このクチクル細胞由来のタンパク質を産業用素材として利用しようとする試みを阻む原因となっていた。

【0006】

これらのケラチンタンパク質やクチクル細胞由来のタンパク質を産業用素材として利用する方法として、本発明者は、特開平 6-100500 号公報において高分子量の還元ケラチンの製造方法を開示し、また、クチクル細胞由来のタンパク質の利用に関しては特開平 6-336499 号公報において動物クチクル細胞由来の不溶性還元タンパクの製造方法を開示してきた。

【0007】

【発明が解決しようとする課題】

しかしながら、上記公報における製造方法では、可溶性の還元ケラチンタンパクと不溶性の還元クチクルタンパクを分離する必要があり、製造工程が複雑になり、そのぶん収率も低下するという問題があった。

また、還元クチクルタンパクは不透明なため、この還元クチクルタンパクから得られるフィルムは、還元ケラチンタンパクから得られるフィルムのような透明性を有しないという問題もあった。

【0008】

【課題を解決するための手段】

本発明者は、上記事情に鑑み、人毛、羊毛、羽毛などの高等動物体毛由来のタンパク質を還元して得られる還元タンパク質の製造方法の効率化と上記還元タンパク質の高品質化について鋭意検討を重ねた結果、高等動物体毛を水性媒体中、タンパク質変成剤の存在下またはタンパク質変成剤と界面活性剤の存在下で、還元

chemical modification is done in the irreversible.

【0005】

On one hand, scale which occupies 10 - 20 weight% of higher animal body hair designates exo cuticle and endo cuticle as main component, but as for protein of these cuticle cell derivations crosslinking in addition to fact that being done, including half cysteine in large amount with iso peptide bond and phosphoramidate connection of protein intermolecular as amino acid, because (With exo cuticle 20 - 30 mole % of all amino acid are occupied. ), crosslinking it has done protein intermolecular with disulfide bond (S-S), Vis-a-vis chemical with insoluble, it tries it will show high resistance to utilize protein of this cuticle cell derivation as material for industry it had become cause which obstructs attempt which at same time, vis-a-vis whatever solvent.

【0006】

As material for industry protein of these keratin protein and cuticle cell derivation as method which it utilizes, this inventor disclosed the manufacturing method of reduction keratin of high molecular weight in Japan Unexamined Patent Publication Hei 6-100500 disclosure, in addition, disclosed manufacturing method of insolubility reduction protein of animal cuticle cell derivation in Japan Unexamined Patent Publication Hei 6-336499 disclosure in regard to utilization of protein of cuticle cell derivation.

【0007】

【Problems to be Solved by the Invention】

But, with manufacturing method in above-mentioned disclosure, reduction keratin protein of solubility and it is necessary to separate insoluble reduction cuticle protein, production step becomes complicated, there was a problem that also the  $\delta$  is yield decreases.

In addition, as for reduction cuticle protein because of opaque, as for film which is acquired from this reduction cuticle protein, there was also a problem that it does not possess transparency like film which is acquired from reduction keratin protein.

【0008】

【Means to Solve the Problems】

You consider this inventor, to above-mentioned situation, protein of human hair, wool, feather or other higher animal body hair derivation is reduced and result of repeating diligent investigation concerning making efficient of manufacturing method of reduction protein which is acquired and quality increase of above-mentioned reduction protein, in the aqueous medium, under or protein modifier and detergent existing of

剤で還元し、還元ケラチンと還元クチクルとが混在したまま、還元剤の存在下で、ミキサーやホモジナイザーなどで細片化し、密栓容器に移して 10-70 deg C で加温熟成させるか、または上記加温熟成後、細片化すると、還元クチクルを主成分とする不溶部の大部分が液状化し、この液状流動物を透析、塩析、沈殿などにより分離精製することにより、還元タンパクを生産性よく製造することができ、しかも得られた還元タンパクから作製されるフィルムが、透明度や膜強度に優れていることを見出し、本発明を完成するにいたった。

## [0009]

すなわち、高等動物体毛を上記のように水性媒体中で還元すると、還元された還元ケラチンは水性媒体中に溶解し、ケラチンを包んでいたキューティクルなどは不溶物として水性媒体中に存在するが、この混合液状物をミキサーやホモジナイザーなどで細片化し、密栓容器に移して加温して熟成させるか、または加温熟成した後、細片化すると、還元クチクルを主成分とする不溶物は徐々に溶解する。

そこで、この不溶物が溶解して液状化した液状流動物を透析、塩析または沈殿処理などの方法で、液状流動物中に含まれている還元剤、タンパク質変成剤、界面活性剤などを除去して精製すると、タンパク質が還元された状態を保持したまま、すなわち、還元したときに生成したチオール基がほぼ保持された状態で還元タンパクを得ることができる。

## [0010]

上記方法によれば、分子量が 10,000-130,000 のものを主成分とし、アミノ酸 100 残基当り 4-16 個のシステインを有する還元タンパクが得られる。

そして、その収率は人間の毛髪や羊毛などを出発原料とする場合 60-90% に達する。

## [0011]

ここで、上記の還元タンパクがアミノ酸 100 残基当り 4-16 個のシステインを有すること、還元タンパクがその還元状態をほぼ保持したまま、つまり還元により生成したチオール基をほぼ保持した状態で得られることとの関係について説明すると、次の通りである。

高等動物体毛由来のタンパク質は、その含有

protein modifier underexisting, reduces higher animal body hair with reductant, When reduction keratin and while reduction cuticle exist together, under existing of reductant, it does flaking with such as mixer, and homogenizer moves to plugging container and with 10 - 70 deg C it heats matures, or after description above heating maturing, flaking does, major portion of insoluble portion which designates reduction cuticle as the main component does making liquid, productivity produces reduction protein well doing this liquid state fluid substance with dialysis, salt precipitation, precipitation etc by separation and purification, to be possible, furthermore film which is produced from reduction protein which is acquired, is superior in clarity and film strength, you discovered, completing this invention reached point of.

## [0009]

When namely, higher animal body hair as description above is reduced in aqueous medium, it melts reduction keratin which is reduced in aqueous medium, it exists in the aqueous medium as for cuticle etc which wrapped keratin as insoluble matter, but after doing this mixed solution condition ones flaking with such as mixer, and homogenizer moving to plugging container and heating matures, or heating maturing, When flaking it does, it melts insoluble matter which designates the reduction cuticle as main component gradually.

Then, this insoluble matter melting, liquid state fluid substance which making liquid is done with the dialysis, salt precipitation or precipitation treatment or other method, removing reductant, protein modifier, detergent etc which is included in liquid state fluid substance, when it refines, when while you keep the state where protein is reduced, namely, reducing, it can acquire reduction protein with state where thiol group which it forms is almost kept.

## [0010]

According to above-mentioned method, molecular weight designates things such as 10,000 - 130,000 as main component, per amino acid 100 residue reduction protein which possesses cysteine 4 - 16 is acquired.

And, yield when hair and wool etc of person are designated as starting material, reaches to 60 - 90%.

## [0011]

When here, you explain concerning relationship with thing which is acquired with state which almost keeps thiol group which is formed above-mentioned reduction protein per amino acid 100 residue while thing and reduction protein which possess cysteine 4 - 16 almost keep reducing state, in other words with reduction, as follows is.

protein of higher animal body hair derivation differs more or

物質の種類によって多少異なるが、アミノ酸分析すると、一般にアミノ酸 100 残基当り 2~8 個のシスチン(ハーフシスチンとしては 4~16 個)を含んでいる。

そこで、このタンパク質を還元すると、シスチン中のジスルフィド結合(-S-S 結合)が開裂してチオール基(SH 基)になり、シスチンはシステインになる。

[0012]

したがって、本発明により得られる還元タンパクは、高等動物体毛由来のタンパク質に応じて、アミノ酸 100 残基当り 4~16 個のシステインを有しており、これは還元タンパクが還元により生成したチオール基をほぼ保持した状態で得られたことに相当する。

また、得られる還元タンパクの分子量範囲は、分子量分析の手段により異なるが、透析による分離精製法では約 10,000~130,000、塩析または沈殿による分離精製法では約 2,000~130,000 である。

[0013]

本発明において還元タンパクとは、還元工程を経て得られたものをいうが、その還元によりタンパク中のシスチンのすべてが還元されているということを意味するものではなく、タンパク中のシスチンの一部が還元されることなく残存しているものであってもよい。

そして、上記のようにして得られた還元タンパクは凍結乾燥法などの手段により粉末にしたり、あるいは必要に応じて少量の界面活性剤と酸化防止のための還元剤を添加した水またはアルコール水溶液などの水性媒体に溶解または分散することによって、還元タンパクの水性媒体分散物とすることができる。

[0014]

上記還元タンパクは、ケラチン細胞およびクチクル細胞由来のタンパク質を還元処理してジスルフィド結合(S-S 結合)をチオール基(SH 基)へと変換したものであり、上記チオール基は反応性が高く、容易に酸化されてジスルフィド結合を再生するので、上記還元タンパクを酸化して重合させ、フィルム、シート、カプセル、スポンジ、筒などのタンパク質の高分子成形品にすることができ、また、その造膜性を利用して化粧品用配合剤として利用できる。

less in kind of the containing substance, but when amino acid analysis it does, per amino acid 100 residue 2 - 8 cystine (As half cystine 4 - 16) are included generally.

Then, when this protein is reduced, disulfide bond (-S-S bond) in cystine doing, the cleavage it becomes thiol group (SH group), cystine becomes cysteine.

[0012]

Therefore, it depends on this invention and reduction protein which is acquired per amino acid 100 residue has had cysteine 4 - 16 according to protein of higher animal body hair derivation, this reduction protein is suitable to thing which is acquired with state which almost keeps thiol group which is formed with reduction.

In addition, molecular weight range of reduction protein which is acquired differs depending upon means of molecular weight analysis, but with dialysis with separation and purification method approximately 10,000 - 130,000, with separation and purification method approximately 2,000 - 130,000 is with salt precipitation or precipitation.

[0013]

Regarding to this invention, reduction protein, passing by reduction step, means that it acquires, but that everything of cystine in protein is reduced by that reduction it is not something where you say and mean, it is possible to be something which has remained without portion of cystine in protein being reduced.

Reduction protein which it acquires and, as description above makes powder with lyophilization method or other means, can make aqueous medium dispersion of reduction protein or in detergent of according to need trace and water or alcohol aqueous solution or other aqueous medium which adds reductant for the oxidation prevention it melts or disperses, or with.

[0014]

As for above-mentioned reduction protein, protein of keratin cell and cuticle cell derivation reduction process doing being something which converts the disulfide bond (S-S bond) to with thiol group (SH group), as for above-mentioned thiol group the reactivity to be high, oxidation being done easily, because regeneration it does disulfide bond, oxidation doing above-mentioned reduction protein, polymerizing, it makes polymer molded article of film, sheet, capsule, sponge, tube or other protein, it to be possible, in addition, Making use of film forming property it can utilize as cosmetic formulation.



[0015]

そして、上記還元タンパクを酸化重合させて得られる高分子は、ポリエチレンなどの石油系ポリマーとは異なり、生分解性を有しているので、上記のような還元タンパクから得られるフィルム、シート、カプセル、スポンジ、筒などの高分子成形品は、投棄された場合、土壌中の微生物によって速やかに分解されるので、自然環境の保護にも役立つという優れた特性を有している。

[0016]

## 【発明の実施の形態】

本発明において、還元タンパクを得るにあたり、出発原料として用いる高等動物体毛としては、ケラチンやクチクル細胞を含むものであればよく、たとえば、人毛(人間の毛髪)、羊毛、馬毛、牛毛などの獣毛、鶏などの鳥類の羽毛などが挙げられる。

上記の水性媒体は、水単独か、または水と水混和性の有機溶媒との混合溶媒であってもよく、そのような混合溶媒を用いる場合は、含水率が50重量%以上のものが好ましく、特に含水率が80重量%以上のものが好ましい。

上記水混和性の有機溶媒としては、たとえばメタノール、エタノールなどの低級脂肪族アルコールなどが挙げられる。

[0017]

還元剤は、高等動物体毛由来のタンパク質中のジスルフィド結合を還元してチオール基に変換する作用をするものであり、この還元剤としては、たとえば2-メルカプトエタノール、チオグリコール酸、ジチオスレイトール、ジチオエリトリールなどのチオール化合物、トリプロピルホスフィン、トリブチルホスフィンなどの有機リン化合物、亜硫酸水素ナトリウムなどの還元能力を持つ無機化合物などが挙げられる。

これらの還元剤の使用量は、高等動物体毛に対する割合で示すと、通常、高等動物体毛10gに対して0.02~0.5モルであることが好ましく、特に還元反応の効率と経済性を考慮すると、高等動物体毛10gに対して0.05~0.2モルが好ましい。

[0018]

タンパク質変成剤は、高等動物体毛由来のタンパク質中の水素結合を切断する作用を有するも

[0015]

And, oxidative polymerization doing above-mentioned reduction protein, because as for polymer which is acquired, because it has possessed biodegradability unlike polyethylene or other petroleum type polymer, as description above as for film, sheet, capsule, sponge, tube or other polymer molded article which is acquired from reduction protein, when it is abandoned, it is disassembled rapidly with microorganism in soil, It has possessed characteristic which is useful to also protection of natural environment and is superior.

[0016]

## [Embodiment of the Invention]

Regarding to this invention, when you obtain reduction protein, if it should have been something which includes keratin and cuticle cell as starting material as higher animal body hair which it uses, for example human hair (hair of person), feather etc of wool, horse wool, cattle wool or other animal fur, chicken or other birds can list.

Above-mentioned aqueous medium, water alone, or is good even with the mixed solvent of water and organic solvent of water miscibility, when that kind of mixed solvent is used, moisture content those of 50 weight % or more is desirable, especially moisture content those of 80 weight % or more is desirable.

As organic solvent of above-mentioned water miscibility, you can list for example methanol, ethanol or other lower fatty alcohol etc.

[0017]

As for reductant, reducing disulfide bond in protein of higher animal body hair derivation, being something which does action which it converts to thiol group, you can list inorganic compound etc which has for example 2-mercaptoethanol, thioglycolic acid, dithiothreitol, dithio erythritol or other thiol compound, tripropyl phosphine, tributyl phosphine or other organophosphorus compound, sodium hydrogen sulfite or other reducing capability as this reductant.

amount used of these reductant when it shows at ratio for higher animal body hair, is 0.02 - 0.5 mole usually, vis-a-vis higher animal body hair 10g, it is desirable, when efficiency and economy of especially reduction reaction are reconsidered, 0.05 - 0.2 mole are desirable vis-a-vis higher animal body hair 10g.

[0018]

protein modifier is listed being something which possesses action which cuts off hydrogen bond in protein of higher

ので、その具体例としては、たとえば尿素、チオ尿素、グアニジン、アコ銅アンモニア錯体 ( $[\text{Cu}(\text{NH}_3)_2][\text{OH}]$ ) などが好適なものとして挙げられる。

このタンパク質変成剤の使用にあたっては、タンパク質に対して溶解作用をもつ水酸化ナトリウム、アンモニアなどのアルカリ、塩化亜鉛、ヨウ化ナトリウム、臭化ナトリウムなどの無機塩を溶解助剤として用いてもよい。

このタンパク質変成剤の濃度と使用量は、高等動物体毛由来のタンパク質の溶解性などを考慮して決定するのが適しているが、通常、高等動物体毛に対して 3~10 mol/l 濃度のものを 3~40 倍重量、特に 5~8 mol/l 濃度のものを 5~20 倍重量使用することが好ましい。

#### [0019]

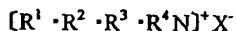
本発明において、還元工程は、上記のようなタンパク質変成剤の存在下、またはタンパク質変成剤と界面活性剤の存在下で行われるが、後者のように界面活性剤を共存させた場合は、還元速度が速くなり、高等動物体毛からの還元タンパクの抽出速度が向上する。

上記界面活性剤としては、下記のアニオン界面活性剤、カチオン界面活性剤、両性界面活性剤、ノニオン界面活性剤のいずれも用いることができる。

#### [0020]

アニオン界面活性剤としては、たとえばドデシル硫酸ナトリウム、ポリエチレングリコールラウリルエーテル硫酸ナトリウムなどのアルキル硫酸塩、アルキル硫酸エステル塩、アルキルリン酸エステル塩、スルホコハク酸エステル塩などのアニオン界面活性剤が挙げられる。

カチオン界面活性剤としては、たとえば次式で示されるカチオン界面活性剤などが挙げられる。



〔式中、 $\text{R}^1$ 、 $\text{R}^2$ 、 $\text{R}^3$  および  $\text{R}^4$  のうち 1 個または 2 個は直鎖もしくは分岐鎖を有する炭素数 8~20 のアルキル基またはヒドロキシアルキル基であり、残基は水素原子、炭素数 1~3 のアルキル基もしくはヒドロキシアルキル基またはベンジル基である。 $\text{X}$  はハロゲン原子、炭素数 1~2 のアルキル硫酸基またはアルキルピリジニウムハライドなどの芳香族四級アミン塩などである〕。

#### [0021]

animal body hair derivation, for example urea, thiourea, guanidine, aquo copper ammonia complex ( $\{\text{Cu}(\text{NH}_3)_{<sub>2</sub>}\{\text{OH}\}$ ) etc making preferred ones, as embodiment.

At time of use of this protein modifier, it is possible to use sodium hydroxide, ammonia or other alkali, zinc chloride, sodium iodide, sodium bromide or other inorganic salt which has dissolving action vis-a-vis protein as dissolving aid.

concentration and amount used of this protein modifier, considering solubility etc of protein of higher animal body hair derivation, deciding is suitable, but those of 3-10 mol/l concentration 3-40 times weight, those of especially 5-8 mol/l concentration 5-20 times weight uses usually, vis-a-vis higher animal body hair is desirable.

#### [0019]

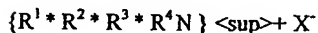
Regarding to this invention, reduction step, as description above is done under existing under, or protein modifier and detergent existing of protein modifier, but like the latter when detergent it coexists, reduction rate becomes quick, extraction rate of reduction protein from higher animal body hair improves.

As above-mentioned detergent, in each case of below-mentioned anionic surfactant, cationic surfactant, amphoteric surfactant, nonionic surfactant you can use.

#### [0020]

As an anionic surfactant, you can list for example sodium dodecyl sulfate, polyethylene glycol sodium lauryl ether sulfonate or other alkyl sulfonate, alkyl sulfuric acid ester salt, alkyl phosphoric acid ester salt, sulfosuccinic acid ester salt or other anionic surfactant.

As cationic surfactant, you can list cationic surfactant etc which is shown with the for example next formula.



{In Formula, as for inside 1 or 2 of  $\text{R}^1$ ,  $\text{R}^2$ ,  $\text{R}^3$  and  $\text{R}^4$  with alkyl group or hydroxyalkyl group of carbon number 8~20 which possesses straight chain or branched chain, remainder is alkyl group or hydroxyalkyl group or benzyl group of hydrogen atom, carbon number 1~3.  $\text{X}$  being a alkyl sulfuric acid group or a alkyl pyridinium halide or other aromatic quaternary amine salt etc of halogen atom, carbon number 1~2, it is }.

#### [0021]

両性界面活性剤としては、たとえば脂肪族アミンの N-カルボキシメチル体、N-スルホアルキル化体、イミダゾリンスルホン酸などのベタイン系の両性界面活性剤(疎水基は主として炭素数 12~14 のアルキル基またはアシル基、対イオンはアルカリ金属などである)などが挙げられる。

ノニオン界面活性剤としては、たとえばポリオキシエチレンアルキルエーテル型、脂肪酸エステル型、ポリエチレンイミン型、ポリグリセリンエーテル型、ポリグリセリンエステル型などのノニオン界面活性剤(疎水基は主として炭素数 12~14 のアルキル基またはアシル基である)などが挙げられる。

## [0022]

そして、この界面活性剤の還元工程での使用量は、高等動物体毛の 5~100 重量%、特に 5~50 重量%が好ましい。

界面活性剤としては、前記したように、アニオン界面活性剤、カチオン界面活性剤、両性界面活性剤、ノニオン界面活性剤のいずれも使用することができるが、なかでもアニオン界面活性剤、たとえばアルキル硫酸塩やポリオキシエチレンアルキルエーテル硫酸塩などが特に好ましい。

## [0023]

還元工程の具体的操作は、たとえば次のように行われる。

すなわち、高等動物体毛をその全量が浸るに充分な 5~40 倍重量の 3~10M(mol/l)のタンパク質変成剤水溶液、たとえば尿素の場合には 5~8M の尿素水溶液に浸漬し、還元剤または還元剤と界面活性剤を加えてから容器を密栓し、好ましくは室温~120 deg C で 1~36 時間加熱撹拌する。

上記還元工程中または後記の細片化や熟成中あるいはその直後に、還元剤を含む反応混合物に超音波を照射すると、還元抽出作業を促進することができ、還元工程に要する時間を短縮することができる。

超音波照射はプローブ型、浴槽型などの公知の超音波照射装置を用いることができる。

超音波照射の強さは反応系の大きさにより異なるが、たとえば反応系の大きさが 1 リットル以下のときは出力 50~200W で充分である。

## [0024]

As amphoteric surfactant, you can list N- carboxymethyl body of for example aliphatic amine and amphoteric surfactant (As for hydrophobic group alkyl group or acyl group, counterion of carbon number 12~14 is alkali metal etcmainly. ) etc of N- sulfo alkylated compound, imidazoline sulfonic acid or other betaine-based.

As nonionic surfactant, you can list for example polyoxyethylene alkyl ether type, fatty acid ester type, polyethylene imine type and the polyglycerine ether type, polyglycerine ester type or other nonionic surfactant (hydrophobic group alkyl group of carbon number 12~14 or is acyl group mainly. ) etc.

## [0022]

And, as for amount used with reduction step of this detergent, 5 - 100 weight%, especially 5 - 50 weight% of higher animal body hair are desirable.

As detergent, as before inscribed, in each case of anionic surfactant, cationic surfactant, amphoteric surfactant, nonionic surfactant you can use, but anionic surfactant, for example alkyl sulfonate and polyoxyethylene alkyl ether sulfate etc especially are desirable even among them.

## [0023]

Concrete operation of reduction step is done, for example following way.

When total amount it soaks it is a protein modifier aqueous solution, for example urea of 3 - 10 M (mol/l ) of satisfactory 5~40 times weight, to soak namely, higher animal body hair in urea aqueous solution of 5 - 8 M, including the reductant or reductant and detergent after plugging it does container, 1- 36 hours heating and stirring does with preferably room temperature~120 deg C.

When in above-mentioned reduction step or flaking of postscript and while maturing or immediately after that, ultrasound is irradiated to the reaction mixture which includes reductant, time when it promotes the reduction extraction operation it to be possible, requires in reduction step can be shortened.

ultrasound irradiation probe type, can use ultrasound irradiation device of bath type or other public knowledge.

Strength of ultrasound irradiation differs depending upon size of reaction system, but when size of for example reaction system is 1 liters or less, it is a satisfactory with the output 50 - 200 W.

## [0024]

上記の還元工程を経て得られた液状流動物を還元剤が存在する状態でミキサーやホモジナイザーなどで細片化してスラリー状にし、密栓容器に移して密栓し、熟成させると、不透明な液状流動物は徐々に透明化してくる(なお、この細片化と熟成の操作順序は逆でもよい)。

熟成温度は、低すぎると液状流動物の透明化が起こらず、また、温度が高いと透明化の速度が速くなるので、50-100 deg C の温度で行うのが最適である。

熟成に際しては密栓容器を振盪培養器などで振盪させて行うと熟成が速く進む。

熟成時間は、熟成温度や熟成する量によっても異なるが、通常、1-30 日である。

この細片化や熟成は還元剤の存在下で行うので、この細片化や熟成の間も還元が進行する。

そして、この細片化や熟成を経ることにより液状流動物が半透明化ないしは透明化する理由としては、高等動物体毛由来のタンパク質が還元されることにより、分子中に現れたチオール基が加水分解触媒作用を発揮して、クチクルのフラグメント化が起こり、可溶化が進むことによるものと考えられる。

[0025]

つぎに、半透明化ないしは透明化した液状物は、透析、塩析、沈殿などにより分離精製される。

たとえば、透析による分離精製処理においては、半透明ないしは透明化した液状流動物を分子量分画サイズ 1 万程度の透析チューブに移し、水に対して透析を行うが、透析中、還元タンパクのチオール基が酸化しないように還元剤を少量含有させた水を使用するのが好ましい。

透析時の水温が高すぎると、液状流動物の着色が起こりやすいため、4-50 deg C で行うのが好ましい。

[0026]

この透析により、残存しているタンパク質変成剤や還元剤(界面活性剤を用いている場合は、その界面活性剤も)などの水可溶性物質が除去されるが、低分子量の還元ケラチンタンパクや低分子量の還元クチクルタンパクも除去されるため、高分子量の還元タンパクが得られる。

Passing by above-mentioned reduction step, with state where reductant exists doing liquid state fluid substance which it acquires flaking with such as mixer, and homogenizer when it makes slurry, moves to plugging container and plugging does, matures, opaque liquid state fluid substance does clarification gradually, (Furthermore, this flaking and operating protocol of maturity may be opposite. ).

As for ageing temperature, when it is too low, clarification of liquid state fluid substance not to happen, in addition, when temperature is high, because velocity of the clarification becomes quick, fact that it does with temperature of 50 - 100 deg C is optimum.

shaking doing plugging container with shaking culture vessel etc at time of maturity, when it does, maturity advances quickly.

ageing time ageing temperature and differs even at quantity which matures, but usually, they are 1 - 30 days.

Because it does this flaking and maturity under existing of reductant, this flaking and during maturity reduction advances.

liquid state fluid substance semitransparent conversion or appears in molecule due to fact that protein of higher animal body hair derivation is reduced as reason which the clarification is done, thiol group which showing hydrolysis catalysis, fragment conversion of cuticle happens and, with this flaking, and passing maturity is thought thing by fact that solubilizing advances.

[0025]

Next, semitransparent conversion or liquid which clarification is done, separation and purification it is done by dialysis, salt precipitation, precipitation etc.

semitransparent it does to be with for example dialysis at time of separation and purification treating, liquid state fluid substance which clarification is done to dialysis tube of molecular weight fraction size 10,000 extent it moves, vis-a-vis water dialysis it does, but in order in dialysis, the thiol group of reduction protein oxidation not to do, it is desirable to use water which reductant trace is contained.

When water temperature at time of dialysis is too high, coloration of the liquid state fluid substance damages to happen easily, it is desirable to do with 4 - 50 deg C.

[0026]

With this dialysis, protein modifier and reductant (When detergent is used, detergent) or other water-soluble substance which have remained are removed, but because also reduction keratin protein of low-molecular-weight and the reduction cuticle protein of low-molecular-weight are removed, reduction protein of the high molecular weight is acquired.

上記のような透析により分離精製された還元タンパクは、半透明ないしは透明な溶液で、必要に応じ凍結乾燥法などにより粉末にするか、あるいはアンモニアなどで弱アルカリ(pH8-9)にし、酸化防止のために還元剤を少量含有させて透明な水溶液にすることができる。

## 【0027】

一方、塩析による分離精製処理は、塩化ナトリウム、硫酸アンモニウム、硫酸ナトリウムなどの無機塩を上記細片化-熟成後の液状流動物に加えることによって行われる。

この塩析にあたっては、上記液状流動物を塩酸などの酸を加えて弱酸性(pH3-5、特に3.5付近が好適)にしておくことが好ましい。

また、アセトン、メタノール、エタノールなどの極性有機溶媒を併用添加し、塩析の効果を高めるようにしてもよい。

この塩析にあたっての無機塩の添加量は、上記熟成後の液状流動物に対して無機塩が0.1-2Mの濃度になるようにするのが好ましい。

塩析時の温度は0 deg C 近辺から40 deg C の範囲が適しており、塩析に要する時間は長くて10分程度みれば充分である。

## 【0028】

また、沈殿による分離精製処理方法は、上記細片化-熟成後の液状流動物に対してアセトン、メタノール、エタノールなどの極性有機溶媒を添加することによって行われる。

この沈殿による分離精製処理にあたっての極性有機溶媒の添加量は、溶媒の種類によっても異なるが、通常、極性有機溶媒の濃度が5-50重量%になるようにするのが好ましい。

この沈殿による分離精製処理時の温度は、低いほど沈殿しやすく、0-20 deg C が適しており、沈殿に要する時間は長くて10分程度みれば充分である。

## 【0029】

上記塩析や沈殿による分離精製処理によって固形物として得られた還元タンパクは、水洗後、必要に応じて凍結乾燥法などにより粉末にするか、あるいはアンモニアなどで弱アルカリ(pH8-9)にしつつ還元タンパクに対して5-50重

semitransparent it does reduction protein which separation and purification is done, to be as description above with dialysis, with transparent solution, with lyophilization method etc according to need powder it makes weak alkali (pH 8-9) with such as ammonia makes, because of oxidation prevention reductant trace contains clear water solution can make.

## 【0027】

On one hand, sodium chloride, ammonium sulfate, sodium sulfate or other inorganic salt it adds separation and purification treatment, to liquid state fluid substance after description above flaking- maturing with salt precipitation, it is done by.

At time of this salt precipitation, above-mentioned liquid state fluid substance is designated as weak acidity (pH 3-5, especially 3.5 vicinity are ideal) including hydrochloric acid or other acid, it is desirable.

In addition, combined addition it does acetone, methanol, ethanol or other polar organic solvent, it is possible to raise the effect of salt precipitation.

As for addition quantity of inorganic salt at time of this salt precipitation, it is desirable for inorganic salt that to try becomes concentration of 0.1 - 2 M, vis-a-vis liquid state fluid substance after description above maturing.

As for temperature at time of salt precipitation range of 40 deg C is suitable from 0 deg C neighborhoods and, time when if it requires in salt precipitation sees being long, 10 min extent, it is a satisfactory.

## 【0028】

In addition, separation and purification processing method is done with precipitation acetone, methanol, ethanol or other polar organic solvent is added vis-a-vis liquid state fluid substance after description above flaking- maturing by.

In this precipitation addition quantity of polar organic solvent at time of separation and purification treatment differs even in kind of solvent, but it is desirable usually, for concentration of polar organic solvent that to try becomes 5 - 50 weight%.

temperature at time of separation and purification treatment is easy to precipitate low extent with this precipitation, 0 - 20 deg C are suitable and, the time when if it requires in precipitation sees being long, 10 min extent, it is a satisfactory.

## 【0029】

While with above-mentioned salt precipitation and precipitation in separation and purification treatment to designate reduction protein which it acquires as the solid, as powder after water wash, with according to need lyophilization method, or etc making weak alkali (pH 8-9)

量%の界面活性剤を含んだ水溶液(酸化防止のために還元剤を少量含有させてもよい)を加えて透明ないしは半透明の水性媒体分散液にすることができる。

## 【0030】

上記のようにして得られた還元タンパクをアミノ酸分析すると、原料として使用したタンパク質によって若干変動するものの、アミノ酸 100 残基当りシステイン[-NH-CH(CH<sub>2</sub>SH)CO-]を 4~16 個有していて、そのチオール基(SH基)が空気中の酸素や酸化剤により容易に酸化され、ジスルフィド結合(-S-S 結合)を生成して重合し、高分子化する。

## 【0031】

上記還元タンパクは、液状で得られたものはそのまま、また、粉末化したものは水性媒体に分散させて水性媒体分散液として、それらを適当な型、形状に流して乾燥すれば、フィルム、シート、カプセル、スポンジなどの所望のものに成形することができる。

そして、上記の還元タンパクの高分子体は、ポリエチレンなどの生分解性のない石油系ポリマーとは異なり、生分解性を有していて、土壌中の微生物によって速やかに分解される。

たとえば、厚さ 0.03mm、横 10mm、縦 20mm のタンパクのフィルムを土壌中に埋蔵しておく、25 deg C にて 2~4 カ月間で分解して消失する。

したがって、使用後、投棄されることがあっても、土壌中の微生物によって分解されて消失するので、自然環境の保護に役立たせることができる。

## 【0032】

また、上記還元タンパクを成形するにあたって、成形品に柔軟性を持たせるために、グリセリン、プロピレングリコール、ポリエチレングリコール、ポリビニルアルコールなどの可塑剤を用いることができる。

## 【0033】

## 【実施例】

つぎに、実施例を挙げて本発明をより具体的に説明する。

ただし、本発明はそれらの実施例のみに限定されるものではない。

なお、以下の実施例などにおいて、溶液や分散

with such as ammonia it can make aqueous medium dispersion of transparent or semitransparent including aqueous solution (trace it is possible to contain reductant because of oxidation prevention. ) which includes detergent of 5 - 50 weight% vis-a-vis reduction protein.

## 【0030】

When reduction protein which it acquires as description above the amino acid analysis is done, although it fluctuates somewhat with protein which you use as starting material, per amino acid 100 residue 4 - 16 having possessed cysteine {-NH-CH(CH<sub>2</sub>SH)CO-}, thiol group (SH group) oxidation it is done easily by oxygen and oxidant in air, forms disulfide bond (-S-S bond) and polymerizes, polymerization does.

## 【0031】

Above-mentioned reduction protein any which are acquired with the liquid state that way, in addition, dispersing to aqueous medium, those suitable type, letting flow to configuration as aqueous medium dispersion, it dries any which if powdering are done, it can form in film, sheet, capsule, sponge or other desired ones.

And, polymer of above-mentioned reduction protein having possessed biodegradability unlike petroleum type polymer which is not polyethylene or other biodegradable, is disassembled rapidly with microorganism in soil.

When film of protein of for example thickness 0.03 mm, side 10 mm, vertical 20 mm is buried in soil, with 25 deg C disassembling between 2 - 4 months, it disappears.

Therefore, after using, it is abandoned being, being disassembled with microorganism in soil, because it disappears, part stand it is it does in protection of natural environment, it is possible.

## 【0032】

In addition, when above-mentioned reduction protein it forms, because softening can be given in molded article, glycerine, propylene glycol, polyethylene glycol, polyvinyl alcohol or other plasticizer can be used.

## 【0033】

## [Working Example(s)]

Next, listing Working Example, you explain from this invention concretely.

However, this invention is not something where are limited in only those Working Example.

Furthermore, solution and dispersion or other concentration

液などの濃度を示す%は重量%である。

[0034]

#### 実施例 1

脱脂洗浄された羊毛 20g、尿素 80g(羊毛 10g に対して 0.67 モル)、2-メルカプトエタノール 20g(羊毛 10g に対して 0.12 モル)、ドデシル硫酸ナトリウム 10g および蒸留水 100g を容器に入れて、60 deg C で 24 時間攪拌して還元を行った。

[0035]

得られた反応混合物を還元剤が存在する状態で ミキサー (Ika-Labortechnik 社製 Ultra-TurraxT25、13500-20500rpm) で断続的に計 5 分間攪拌して細片化し、得られた液状流動物を再度容器に入れ、60 deg C で 24 時間振盪した。

ついで、この液状流動物を透析用セロファンチューブ(ユニオンカーバイド社製 分子量分画約 1 万)に入れ、濃度 0.2% の 2-メルカプトエタノール水溶液 3 リットルで 3 回透析を繰り返し、半透明な水性スラリーを 290g 得た。

得られた半透明水性スラリーは、凍結乾燥品の秤量結果から、10g 当たり固形成分を 0.63g 含むことが判明した。

[0036]

アミノ酸分析によれば、この半透明スラリーの成分は、アルギニンが 6.7 モル%、アスパラギン酸が 5.3 モル%、システイン+ハーフシステインが 12.8 モル%、グルタミン酸が 11.7 モル%、グリシンが 7.1 モル%、セリンが 9.0 モル%含まれていて、構成アミノ酸分布が原料の羊毛にほぼ一致していた。

[0037]

また、この半透明スラリーを遠心分離して得られた上澄み液を SDS-ポリアクリルアミド電気泳動法で分子量分布を調べたところ、分子量は 10,000 から 130,000 の範囲にあり、羊毛ケラチン由来のタンパク質を主体とする多種のタンパク質バンドが連続状の帯になって観察された。

[0038]

#### 実施例 2

脱脂洗浄された羊毛 20g、尿素 80g、2-メルカプトエタノール 20g、ドデシル硫酸ナトリウム 10g および蒸留水 100g を容器に入れて、60 deg C で

are shown in Working Example etc below, % it is a weight%.

[0034]

#### Working Example 1

wool 20g, urea 80g which degreasing is done (Vis-a-vis wool 10g 0.67 mole), 2-mercaptoethanol 20g (Vis-a-vis wool 10g 0.12 mole), inserting sodium dodecyl sulfate 10g and distilled water 100g in container, 24 hours agitating with 60 deg C, it reduced.

[0035]

With state where reductant exists with mixer (Ika-Labortechnik supplied Ultra-TurraxT2 5, 1 3500-20500 rpm) total 5 min agitating reaction mixture which it acquires to discontinuous, flaking it did, it inserted liquid state fluid substance which is acquired in container for thesecond time, 24 hours shaking did with 60 deg C.

Next, this liquid state fluid substance was inserted in cellophane tube (Union Carbide supplied molecular weight fraction approximately 10 and 000) for dialysis, thrice dialysis was repeated 2-mercaptoethanol with aqueous solution 3 liter of concentration 0.2%, semitransparent aqueous slurry 290 g was acquired.

semitransparent aqueous slurry which it acquires, from measured weight result of lyophilized product, per 10 g 0.63 g includes solid component, it was ascertained.

[0036]

According to amino acid analysis, as for component of this semitransparent slurry, arginine 6.7 mole %, aspartic acid 5.3 mole %, cysteine+half cystine 12.8 mole %, glutamic acid 11.7 mole %, glycine being included 7.1 mole %, serine 9.0 mole %, constituent amino acid amount fabric almost agreed to wool of starting material.

[0037]

In addition, centrifugal separation doing this semitransparent slurry, supernatant which it acquires was observed when molecular weight distribution was inspected with SD S-polyacrylamide electrophoresis method, many protein band which as for molecular weight is range of 10,000 to 130,000, designates the protein of wool keratin derivation as main component becoming band of continuous.

[0038]

#### Working Example 2

Inserting wool 20g, urea 80g, 2-mercaptoethanol 20g, sodium dodecyl sulfate 10g and distilled water 100g which degreasing are done in the container, 24 hours agitating with

24 時間攪拌して還元を行った。

[0039]

得られた反応混合物を還元剤が存在する状態でミキサー (Ika-Labortechnik 社製 Ultra-TurraxT25、13500-20500rpm) で断続的に計 5 分間攪拌して細片化し、さらに窒素ガス下にて、短針(プローブ)型超音波装置により  $200 \text{ W/cm}^2$ 、50 deg C で、延べ 30 分間超音波処理した。

得られた液状流動物を再度容器に入れ、60 deg C で 24 時間振盪した。

ついで、この液状流動物を透析用セロファンチューブ(ユニオンカーバイド社製 分子量分画約 1 万)に入れ、濃度 0.2% の 2-メルカプトエタノール水溶液 5 リットルで 3 回透析を繰り返し、半透明な水性スラリーを 250g 得た。

得られた半透明水性スラリーは、凍結乾燥品の秤量結果から、10g 当たり固形成分を 0.66g 含むことが判明した。

[0040]

アミノ酸分析によれば、この半透明スラリーの成分は、アルギニンが 6.4 モル%、アスパラギン酸が 5.1 モル%、システイン+ハーフシステインが 11.7 モル%、グルタミン酸が 11.0 モル%、グリシンが 7.1 モル%、セリンが 8.4 モル%含まれていて、その構成アミノ酸分布が原料の羊毛にほぼ一致していた。

[0041]

また、この半透明スラリーを遠心分離して得られた上澄み液を SDS-ポリアクリルアミド電気泳動法で分子量分布を調べたところ、分子量は 10,000 から 130,000 の範囲にあり、羊毛ケラチン由来のタンパク質を主体とする多種のタンパク質バンドが連続状の帯になって観察された。

[0042]

### 実施例 3

実施例 1 と同様に、羊毛を還元し、かつ細片化と熟成をして得られた液状流動物を、室温にて、6N 塩酸で pH5 に調整し、この液状流動物に飽和硫酸アンモニウム水溶液 40g を添加し、室温で 10 分間放置した。

この液状流動物を遠心分離して上澄みを捨て、沈積したタンパク成分に濃度 0.2% の 2-メルカプ

60 deg C, it reduced.

[0039]

With state where reductant exists with mixer (Ika-Labortechnik supplied Ultra-TurraxT2 5, 13500-20500 rpm) total 5 min agitating reaction mixture which it acquires to discontinuous, flaking it did, furthermore under nitrogen gas, with  $200 \text{ W/cm}^2$ 、50 deg C, total 30 min ultrasonic treatment it did with short needle (probe) type ultrasound equipment.

You inserted liquid state fluid substance which it acquires in container for second time, 24 hours shaking did with 60 deg C.

Next, this liquid state fluid substance was inserted in cellophane tube (Union Carbide supplied molecular weight fraction approximately 10 and 000) for dialysis, thrice dialysis was repeated 2-mercaptoethanol with aqueous solution 5 liter of concentration 0.2%, semitransparent aqueous slurry 250 g was acquired.

semitransparent aqueous slurry which it acquires, from measured weight result of lyophilized product, per 10 g 0.66 g includes solid component, it was ascertained.

[0040]

According to amino acid analysis, as for component of this semitransparent slurry, arginine 6.4 mole %, aspartic acid 5.1 mole %, cysteine+half cystine 11.7 mole %, glutamic acid 11.0 mole %, glycine being included 7.1 mole %, serine 8.4 mole %, constituent amino acid amount fabric almost agreed to wool of starting material.

[0041]

In addition, centrifugal separation doing this semitransparent slurry, supernatant which it acquires was observed when molecular weight distribution was inspected with SDS-polyacrylamide electrophoresis method, many protein band which as for molecular weight is range of 10,000 to 130,000, designates the protein of wool keratin derivation as main component becoming band of continuous.

[0042]

### Working Example 3

In same way as Working Example 1, it reduced wool, at same time did flaking and maturity and with room temperature, it adjusted liquid state fluid substance which is acquired, pH 5 with 6 N hydrochloric acid, to this liquid state fluid substance added the saturation ammonium sulfate aqueous solution 40g, 10 min left with room temperature.

centrifugal separation doing this liquid state fluid substance, you threw away supernatant, in protein component which



トエタノール水溶液 100g を加えて攪拌と遠心分離による洗浄操作を 3 回繰り返してタンパク成分を洗浄し、洗浄後に濃度 0.2% の 2-メルカプトエタノールを加えて全体を 250g とした。

得られた半透明スラリーは、凍結乾燥品の秤量結果から、10g 当たり固形成分を 0.64g 含むことが判明した。

## 【0043】

アミノ酸分析によれば、この半透明スラリーの成分は、実施例 1 の場合と同様な組成を示し、また、このスラリーを遠心分離して得られた上澄み液は、SDS-ポリアクリルアミド電気泳動法で分子量分布を調べたところ実施例 1 の場合と同様に分子量が 10,000 から 130,000 の範囲にあった。

## 【0044】

## 試験例 1

実施例 1 で調製した半透明スラリーを凍結乾燥して得られた粉体 1.7g に、蟻酸 12g を加えて溶解し、ほぼ無色透明な羊毛の蟻酸溶液(タンパク濃度約 14%)を得た。

## 【0045】

この溶液を水平なポリプロピレン板に展開して室温にて乾燥し、ついで 80 deg C で 15 分間加熱処理し、ポリプロピレン板から剥がして透明なフィルムを得たのち、該フィルムをメタノール浴、グリセリン-水浴(重量比 1:9)にそれぞれ 10 分間浸漬し、室温で 24 時間乾燥した。

このフィルムの 40cm<sup>2</sup> を引張り試験機(今田製作所製 形式 SV55)により、相対湿度 65%、引張り速度 20mm/min の条件下で、最大破断強度およびヤング率を測定した。

## 【0046】

また、3cm×3cm(相対湿度 65%時)の正方形形状のフィルムを常温水中に 1 時間浸漬し、湿った状態のままで試験片の長さを測定し、下記式によりフィルムの膨潤度を求めた。

## 【0047】

deposits washing operation thrice you washed protein component over again with churning and centrifugal separation including 2-mercaptoethanol aqueous solution 100 g of concentration 0.2%, you designated entirety as 250 g after washing concentration 0.2% including 2-mercaptoethanol.

semitransparent slurry which it acquires, from measured weight result of lyophilized product, per 10 g 0.64 g includes solid component, it was ascertained.

## 【0043】

According to amino acid analysis, supernatant which component of this semitransparent slurry, shows composition which is similar to case of Working Example 1, in addition, this slurry centrifugal separation doing, it acquires when molecular weight distribution was inspected with SDS-polyacrylamide electrophoresis method molecular weight was in same way as case of Working Example 1 in range of 10,000 to 130,000.

## 【0044】

## Test Example 1

lyophilizing doing semitransparent slurry which is manufactured with Working Example 1, it melted in powder 1.7g which it acquires, including formic acid 12g, almost acquired formic acid solution (protein concentration approximately 14%) of colorless, transparent wool.

## 【0045】

Developing this solution in horizontal polypropylene sheet, it dried with room temperature, 15 min heat treatment did next with 80 deg C, peeled from polypropylene sheet and after acquiring the transparent film, 10 min it soaked said film respectively in methanol bath, glycerine-water bath (weight ratio 1:9), 24 hours dried with room temperature.

40 cm<sup>2</sup> of this film due to tensile tester (Imada Seisakusho make form SV55), under condition of the relative humidity 65%, stretching speed 20 mm/min, maximum break strength and Young's modulus were measured.

## 【0046】

In addition, film of square of 3 cm X 3 cm (At time of relative humidity 65%) 1 hour was soaked in ambient temperature water, length of specimen was measured with while it was a state which dampens, degree of swelling of film was sought with below-mentioned formula.

## 【0047】

$$\text{膨潤度 (長さ\%)} = \frac{\text{膨潤後の長さ} - \text{膨潤前の長さ}}{\text{膨潤後の長さ}} \times 100$$

【0048】

さらに、このフィルムの水(30 deg C)、沸騰水、メタノール(30 deg C)、ジメチルホルムアミド(30 deg C)およびジメチルスルフォキシド(30 deg C)に対する溶解性を下記式により求めた。

処理は、沸騰水に対してはフィルムを10分間浸漬することによって行い、水、メタノール、ジメチルホルムアミド、ジメチルスルフォキシドに対しては、それぞれフィルムを30 deg Cで24時間浸漬することによって行った。

なお、重量は処理前および処理後の試験片を水洗後、30 deg Cにて24時間乾燥した後に測定した。

$$\text{溶解性 (\%)} = \frac{\text{処理後の重量}}{\text{処理前の重量}} \times 100$$

【0048】

Furthermore, water of this film (30 deg C), boiling water, methanol (30 deg C), dimethylformamide (30 deg C) and solubility for dimethyl sulfoxide (30 deg C) was sought with below-mentioned formula.

Vis-a-vis water and methanol, dimethylformamide, dimethyl sulfoxide, respective film it did with 30 deg C 24 hours it soaks with it treated, vis-a-vis boiling water film 10 min is soaked with.

Furthermore, weight after water wash, 24 hours after drying, measured specimen before treating and after treating with 30 deg.C.

【0049】

それらの結果を表1に示す。

【0050】

【表1】

【0049】

Those results are shown in Table 1.

【0050】

【Table 1】

	実施例1のフィルム
フィルムの厚さ ( $\mu\text{m}$ )	55
フィルムの重量 ( $\text{mg}/\text{cm}^2$ )	5.1
最大破断強度 ( $\text{kg}/\text{cm}^2$ )	780
ヤング率 ( $\text{kg}/\text{cm}^2$ )	5500
膨潤度 (長さ%)	30
溶解性 (%)	
水	0
沸騰水	0
メタノール	0
ジメチルホルムアミド	0
ジメチルスルフォキシド	0

## 【0051】

表1に示すように、実施例1の半透明スラリーと蟻酸より作製したフィルムは、最大破断強度が  $780\text{kg}/\text{cm}^2$  で、ヤング率が  $5500\text{kg}/\text{cm}^2$  であり、実用上充分な機械的強度を有していた。

## 【0052】

また、このフィルムは常温の水に対して 30%の膨潤度を示し、水に不溶で膜形状を保っていた。

さらに、このフィルムは、試験した各種有機溶媒に対して溶解せず(溶解性 0%)、すなわち、これらの溶媒に不溶で、これらの溶媒中で溶解することなく使用できることが明らかにされた。

## 【0053】

## 試験例 2

実施例 1~3 で調製した半透明スラリーのそれぞれ 10g にグリセリン 0.15g を加え、それらをそれぞれ別々に水平なポリプロピレン板に展開して室温にて乾燥し、ついで  $60\text{ deg C}$  で 15 分間加熱処理し、ポリプロピレン板から剥がして半透明なフィルムを得た。

## 【0054】

## 【0051】

As shown in Table 1, from semitransparent slurry and formic acid of Working Example 1 the film which is produced, maximum break strength being  $780\text{ kg}/\text{cm}^2$ , Young's modulus being  $5500\text{ kg}/\text{cm}^2$  satisfactory mechanical strength, in regard to utility had had.

## 【0052】

In addition, this film showed 30% degree of swelling vis-a-vis water of the ambient temperature, at water maintained film configuration with insoluble.

Furthermore, it did not melt this film, vis-a-vis various organic solvent which are tested and (solubility 0%), with insoluble, you can use for these solvent of the namely, clear it made without melting in solvent of these.

## 【0053】

## Test Example 2

semitransparent slurry which is manufactured with Working Example 1~3 respectively in 10 g each one developing those separately in horizontal polypropylene sheet including the glycerine 0.15g, it dried with room temperature, 15 min heat treatment did next with  $60\text{ deg C}$ , peeled from polypropylene sheet and acquired semitransparent film.

## 【0054】

これらのフィルムの40cm<sup>2</sup>について、試験例1と同様の引張り試験機を用いて、最大破断強度およびヤング率を測定した。

## [0055]

また、それぞれ試験例1と同様に3cm×3cmの正形状のフィルムを常温水に1時間浸漬し、試験例1と同様にフィルムの膨潤度を求めた。

さらに、これらのフィルムの水、沸騰水、メタノール、ジメチルホルムアミドおよびジメチルスルフォキシドに対する溶解性を試験例1と同様に調べた。

それらの結果を表2に示す。

## [0056]

## [表2]

	実施例1の フィルム	実施例2の フィルム	実施例3の フィルム
フィルムの厚さ (μm)	43	70	45
タンパク量 (mg/cm <sup>2</sup> ) ※	5.0	8.0	5.5
最大破断強度 (kg/cm <sup>2</sup> )	600	1050	980
ヤング率 (kg/cm <sup>2</sup> )	5500	7000	6000
膨潤度 (長さ%)	20	10	20
溶解性 (%)			
水	0	0	0
沸騰水	0	0	0
メタノール	0	0	0
ジメチルホルムアミド	0	0	0
ジメチルスルフォキシド	0	0	0

※:フィルム重量のうち、20%を占めるグリセロール分を含む

## [0057]

表2に示すように、実施例1~3の半透明スラリーとグリセリンから作製したフィルムは、最大破断強度がそれぞれ600kg/cm<sup>2</sup>、1050kg/cm<sup>2</sup>、980kg/cm<sup>2</sup>で、ヤング率がそれぞれ

maximum break strength and Young's modulus were measured concerning 40 cm<sup>2</sup> of these film, making use of tensile tester which is similar to Test Example 1.

## [0055]

In addition, film of square of 3 cm X 3 cm 1 hour was soaked insame way as respective Test Example 1 in ambient temperature water, degree of swelling of the film was sought in same way as Test Example 1.

Furthermore, water of these film, solubility for boiling water, methanol, dimethylformamide and the dimethyl sulfoxide was inspected in same way as Test Example 1.

Those results are shown in Table 2.

## [0056]

## [Table 2]

Among \*:film weight, glycerol amount which occupies 20% it includes

## [0057]

As shown in Table 2, film which is produced from semitransparent slurry and glycerine of Working Example 1~3, maximum break strength being 600 kg/cm<sup>2</sup>, 1050 kg/cm<sup>2</sup>, 980 kg/cm<sup>2</sup> respectively, the Young's

JP1998291999A

1998-11-4

5500kg/cm<sup>2</sup>、7000kg/cm<sup>2</sup>、6000kg/cm<sup>2</sup>であり、実用上充分な機械的強度を有していた。

【0058】

また、これらのフィルムはそれぞれ水に対して20%、10%、20%の膨潤度を示し、水に不溶で膜形状を保っていた。

さらに、これらのフィルムは、試験した各種溶媒に対して溶解せず(溶解性 0%)、すなわち、これらの溶媒に不溶で、これらの溶媒中でも溶解することなく使用できることが明らかにされていた。

【0059】

【発明の効果】

本発明によれば、高分子量成分が多く、かつ架橋可能なチオール基を有する還元タンパクを製造することができる。

【0060】

そして、得られた還元タンパクは、架橋可能なチオール基を有することと、高分子量成分が多いという特性を利用して、たとえば、フィルム、シート、カプセル、スポンジ、筒などの高分子成形品を作製することができる。

【0061】

上記還元タンパクの高分子体は、生分解性を有していて、上記還元タンパクを原料として作製された高分子成形品は、投棄された場合、微生物によって分解するので、自然環境の保護に役立つ。

modulus being 5500 kg/cm<sup>2</sup>、7000 kg/cm<sup>2</sup>、6000 kg/cm<sup>2</sup> respectively satisfactory mechanical strength, in regard to utility had had.

【0058】

In addition, these film showed 20%, 10% and 20% degree of swelling respectively vis-a-vis water, at water maintained film configuration with insoluble.

Furthermore, it did not melt these film, vis-a-vis various solvent which are tested and (solubility 0%), with insoluble, you can use for these solvent of namely, clear it was made without melting even in the solvent of these.

【0059】

【Effects of the Invention】

According to this invention, reduction protein where high molecular weight component is many, at same time possesses crosslinkable thiol group can be produced.

【0060】

And, reduction protein which is acquired making use of characteristic that, is many a thing and a high molecular weight component which possess crosslinkable thiol group can produce for example film、sheet、capsule、sponge、tube or other polymer molded article.

【0061】

Because polymer of above-mentioned reduction protein, having possessed biodegradability, above-mentioned reduction protein when it is abandoned, disassembles polymer molded article which is produced as starting material, with microorganism, it is useful to protection of natural environment.